

10/069353

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

REC'D 21 NOV 2001

WIPO PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

TV6

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts LEA33955-WO	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/08013	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 17/08/2000	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 27/08/1999
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N15/00		
Anmelder BAYER AG		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.

2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 9 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.

☐ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☒ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☒ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 22/01/2001	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 19.11.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde: <div style="display: flex; align-items: center;"> <div> Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465 </div> </div>	Bevollmächtigter Bediensteter Morawetz, R Tel. Nr. +49 89 2399 8155



I. Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):
Beschreibung, Seiten:

1-37 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-72 ursprüngliche Fassung

Zeichnungen, Blätter:

1/7-7/7 ursprüngliche Fassung

Sequenzprotokoll in der Beschreibung, Seiten:

1-330, in der ursprünglich eingereichten Fassung.

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☒ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☒ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☒ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/08013

Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
- ☐ Ansprüche, Nr.:
- ☐ Zeichnungen, Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

III. Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit

1. Folgende Teile der Anmeldung wurden nicht daraufhin geprüft, ob die beanspruchte Erfindung als neu, auf erfinderischer Tätigkeit beruhend (nicht offensichtlich) und gewerblich anwendbar anzusehen ist:

- ☐ die gesamte internationale Anmeldung.
- ☒ Ansprüche Nr. 10, 12, 34-62, 70-72 (alle komplett); 1-9, 11, 13-33, 63-69 (alle partiell).

Begründung:

- ☐ Die gesamte internationale Anmeldung, bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. beziehen sich auf den nachstehenden Gegenstand, für den keine internationale vorläufige Prüfung durchgeführt werden braucht (*genaue Angaben*):
- ☐ Die Beschreibung, die Ansprüche oder die Zeichnungen (*machen Sie hierzu nachstehend genaue Angaben*) oder die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unklar, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte (*genaue Angaben*):
- ☐ Die Ansprüche bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unzureichend durch die Beschreibung gestützt, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte.
- ☒ Für die obengenannten Ansprüche Nr. 10, 12, 34-62, 70-72 (alle komplett); 1-9, 11, 13-33, 63-69 (alle partiell) wurde kein internationaler Recherchenbericht erstellt.

2. Eine sinnvolle internationale vorläufige Prüfung kann nicht durchgeführt werden, weil das Protokoll der Nukleotid- und/oder Aminosäuresequenzen nicht dem in Anlage C der Verwaltungsvorschriften vorgeschriebenen Standard entspricht:

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/08013

- ☐ Die schriftliche Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.
- ☐ Die computerlesbare Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	14-26, 30-33, 63-65, 67-69
	Nein: Ansprüche	1-9, 11, 13, 27-29, 66
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	
	Nein: Ansprüche	14-26, 30-33, 63-65, 67-69
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-9, 11, 13-33, 63-69
	Nein: Ansprüche	

2. Unterlagen und Erklärungen siehe Beiblatt

VI. Bestimmte angeführte Unterlagen

1. Bestimmte veröffentlichte Unterlagen (Regel 70.10)

und / oder

2. Nicht-schriftliche Offenbarungen (Regel 70.9)

siehe Beiblatt

Zu Punkt I

Basis des Gutachtens

1. Die internationale vorläufige Prüfung erstreckt sich auf jene Ansprüche, für welche ein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, d.h. Ansprüche 1-9, 11, 13-33, 63-69 (alle partiell, d.h. sofern sie sich auf SEQ ID NO: 7 oder SEQ ID NO:8 beziehen).

Zu Punkt III

Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit

1. Ansprüche 10, 12, 34-62, 70-72 (alle komplett); 1-9, 11, 13-33, 63-69 (alle partiell, d.h. sofern sie sich nicht auf SEQ ID NO: 7 oder SEQ ID NO:8 beziehen) beziehen sich auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde. Für diese Ansprüche wird daher auch keine internationale vorläufige Prüfung durchgeführt (Regel 66.1e) PCT).

Zu Punkt V

Begründete Feststellung nach Artikel 35 PCT hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit

1. Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen, die Numerierung entspricht der Auflistung der Dokumente in dem internationalen Recherchenbericht:

D1: KIRST, H.A. ET AL., 1992, BAKER, D.R., FENYES, J.G. AND STEFFENS J.J., AMERICAN CHEMICAL SOCIETY SYMPOSIUM SERIES NR. 504:

SYNTHESIS AND CHEMISTRY OF AGROCHEMICALS III. WASHINGTON DC.

D2: MATSUSHIMA P ET AL., GENE,NL,ELSEVIER BIOMEDICAL PRESS. AMSTERDAM, Bd. 146, Nr. 1, 1994, Seiten 39-45

D3: HOPWOOD D A., CHEMICAL REVIEWS,US,AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. EASTON, Bd. 97, Nr. 7, November 1997 (1997-11), Seiten 2465- 2497

D4: BALTZ R H ET AL., TRENDS IN BIOTECHNOLOGY,GB,ELSEVIER

PUBLICATIONS, CAMBRIDGE, Bd. 14, Nr. 7, 1. Juli 1996 (1996-07-01), Seiten 245-250

D5: WO 99 46387

2. Die vorliegende Anmeldung erfüllt nicht die Bedingung des Artikel 33(2) PCT, da der Gegenstand der Ansprüche 1-9, 11, 13, 27-29 und 66 nicht neu ist, d.h durch den Stand der Technik, wie er in der Ausführungsordnung umschrieben ist, vorweggenommen ist (Regel 64(1)-(3) PCT).

Die vorliegende Anmeldung betrifft Nukleinsäuren welche für die Enzymaktivitäten der Spinosyn-Biosynthese codieren. Spinosyne stellen eine Gruppe von makrolidischen Verbindungen dar (sog. A83543 Komplex), die von dem Actinomyceten *Saccharopolyspora spinosa* (*S. spinosa*) gebildet werden. Die Struktur der Spinosyne und daß die Biosynthese der Spinosyne über einen Polyketid-Biosyntheseweg unter Beteiligung von multifunktionellen Enzymen, den sog. Polyketidsynthasen (PKSs) verläuft, ist im Stand der Technik bekannt (siehe D1). SEQ ID NO: 7 (Nucleotidposition 828 bis 1 der SEQ ID NO: 4) kodiert für eine Methyltransferase (SEQ ID NO: 8, 275 Aminosäuren).

- 2.1. D2 (Zusammenfassung; Seite 40, rechte Spalte, 1. Absatz; Abb. 3 und 4) offenbart die Konstruktion einer Cosmid Genbank von *S. spinosa* in pOJ436 sowie eine Methode zum Transfer von Cosmiden, welche *S. spinosa* DNA enthalten von *E.coli* nach *S. spinosa*. Laut D2 könnte Konjugation von *E.coli* und Rekombination in die chromosomale DNA von *S. spinosa* zur Klonierung von Genen von *S. spinosa* sowie zu Komplementationsanalysen eingesetzt werden. DNA Analyse von fünf, in der A83543 Produktion blockierten Mutanten zeigte, daß in diesen ein 400 kB *SpeI* Fragment abwesend war, welches auch in Exkonjugaten, defekt für die A83543 Produktion, abwesend war. Laut D2 weist das darauf hin, daß Gene, die an der Biosynthese oder Regulation der A83543 Produktion beteiligt sind auf diesem 400 kB *SpeI* Fragment lokalisiert sind, dies wurde später bestätigt (siehe D5, Seite 13, Zeile 20-32, Abb.2; nur als technische Evidenz zitiert). D2 offenbart auch das isolierte 400 kB *SpeI* Fragment (Abb. 3 und 4).

Ansprüche 1-9 und 11 sind gegenwärtig so breit gefaßt, daß chromosomale DNA von *S. spinosa* bzw. das 400 kB *SpeI* Fragment, welche ebenfalls zumindestens

eine Region umfassen, die für eine Enzymaktivität codiert, welche an der Biosynthese von Spinosynen beteiligt ist, darunter fallen. Eine bekannte Nukleinsäure (chromosomale DNA von *S. spinosa* bzw. 400 kB Spel Fragment) wird durch Angabe eines inhärenten technischen Merkmales (Sequenz der Nukleinsäure, SEQ ID NO: 7) nicht neu gemacht. *S. spinosa* fällt gegenwärtig unter den Begriff "Wirtszelle" in Ansprüchen 27-29.

D2 nimmt somit den Gegenstand der Ansprüche 1-9, 11, 13, 27-29, 31-33, vorweg.

- 2.2. Da *S. spinosa* unter den Begriff Wirtszelle in Ansprüchen 27-29 fällt und D1 die Gewinnung von A83543 (= Spinosyn) aus dem Kulturmedium von *S. spinosa* offenbart, ist D1 neuheitsschädlich für Anspruch 66.
- 2.3. Der Gegenstand der Ansprüche 14-26, 30-33, 63-65, 67-69 scheint im Hinblick auf den verfügbaren Stand der Technik, neu zu sein.
3. Die vorliegende Anmeldung erfüllt nicht die Bedingung des Artikel 33(3) PCT, da der Gegenstand der Ansprüche 14-26, 30-33, 63-65, 67-69 nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit beruht, d.h. für einen Fachmann nach dem Stand der Technik, wie er in der Ausführungsordnung umschrieben ist, als naheliegend anzusehen ist (Regel 65(1)-(2) PCT).
- 3.1. Anspruch 14 richtet sich auf ein DNA-Konstrukt umfassend eine Nukleinsäure, welche zumindest eine Region umfaßt, die für eine Enzymaktivität codiert (d.h. SEQ ID NO: 7), welche an der Biosynthese von Spinosyn beteiligt ist und zu mindestens einen heterologen Promoter.

D2, das als nächstliegender Stand der Technik angesehen wird, offenbart (vgl. 2.1. oben) daß Gene, die an der Biosynthese oder Regulation der A83543 Produktion in *S. spinosa* beteiligt sind auf einem 400 kB Spel Fragment lokalisiert sind. Der Gegenstand des Anspruchs 14 unterscheidet sich von dem Stand der Technik in dem er sich auf ein DNA Konstrukt richtet, welches eine Nukleinsäure, die für eine Enzymaktivität codiert (d.h. SEQ ID NO: 7), umfaßt. Die mit der vorliegenden Erfindung zu lösende Aufgabe kann somit darin gesehen werden, jene Nukleinsäuren breitzustellen welche für die Enzymaktivitäten der

Spinosyn-Biosynthese codieren (d.h. SEQ ID NO: 7) .

Die in Anspruch 14 der vorliegenden Anmeldung vorgeschlagene Lösung kann aus folgenden Gründen nicht als erfinderisch betrachtet werden (Artikel 33(3) PCT):

D3 (gesamtes Dokument) gibt einen Überblick über die Klonierung von PKSs, offenbart daß die PKSs, welche an der Makrolid-Biosynthese in Actinomyceten beteiligt sind aus Modulen bestehen und daß die entsprechenden Biosynthesegene in einem einzigen Cluster auftreten. D3 erwähnt auch die Möglichkeit die Biosynthesegene über Komplementation zu klonieren und führt zahlreiche Beispiele von klonierten PKSs aus Actinomyceten an.

D2 stellt eine Methode bereit, welche spezifisch zur Klonierung von Genen von *S. spinosa* sowie zu Komplementationsanalysen in *S. spinosa* eingesetzt werden kann. D2 offenbart des weiteren, daß Gene, die an der Biosynthese oder Regulation der A83543 Produktion in *S. spinosa* beteiligt sind auf einem 400 kB Spel Fragment lokalisiert sind.

Diese Behörde ist daher der Auffassung daß die Bereitstellung der Nukleinsäuren welche für die Enzymaktivitäten der Spinosyn-Biosynthese codieren (d.h. SEQ ID NO: 7) im Hinblick auf die Lehre von D2 in Kombination mit D3 für den Fachmann naheliegend war. Der Fachmann hatte auch eine realistische Erfolgserwartung, da die Identifizierung und Charakterisierung der beanspruchten spezifischen Sequenzen für den Fachmann nicht mehr bedeutete als die routinemäßige Durchführung von Experimenten.

- 3.2. Ansprüche 15-26, 30-33, 63-65, 67-69 betreffen Ausführungsbeispiele die dem Fachmann bekannt sind. Diese würden nur als erfinderisch angesehen werden falls sie auf einem neuen und erfinderischen Nukleinsäure beruhen würden. Für die Ansprüche 15-26, 30-33, 63-65, 67-69 ist dies nicht der Fall. Der Gegenstand dieser Ansprüche wird daher im Hinblick auf den verfügbaren Stand der Technik (D1-D4) nicht als nicht erfinderisch angesehen.

Zu Punkt VI

Bestimmte angeführte Unterlagen

Bestimmte veröffentlichte Unterlagen (Regel 70.10)

Anmelde Nr. Patent Nr.	Veröffentlichungsdatum (Tag/Monat/Jahr)	Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)	Prioritätsdatum (zu Recht beansprucht) (Tag/Monat/Jahr)
WO 99 46387	16.09.1999	16.02.1999	09.03.1998

In der Annahme, daß die Sequenz der SEQ ID NO:7 in dem 1. Prioritätsdokument (DE19991040596, 27.08.1999) und in der vorliegenden Anmeldung ident sind (dies wurde nicht überprüft) kann der beanspruchte Prioritätstag den relevanten Teilen der vorliegenden Anmeldung zuerkannt werden und WO9946387 gilt nicht als Stand der Technik nach Artikel 33 Absätze 2 und 3 (Regel 64.3 PCT). WO9946387 offenbart die Sequenz von spnF (SEQ ID NO: 1, 20168-20995) welche ident ist mit SEQ ID NO:7 der vorliegenden Anmeldung.